

Mekanisme Katekin Sebagai Obat Antidislipidemia (Uji In Silico)

THE MECHANISM OF CATECHIN AS ANTIDYSLIPIDEMIC DRUG (IN SILICO STUDY)

Rosa Adelina*, dan Arifayu Addiena Kurniatri

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta Pusat

*E - mail : rosa.adelina@safro.net

Submitted : 14-03-2018, Revised : 29 - 5 - 2018, Revised : 01-07-2018, Accepted : 16-08-2018

Abstract

*Indonesia is rich in medicinal plants, such as *Uncaria gambir* Linn which can be used as a source of medicinal raw materials. The high content of catechin in “gambir” has the potential as an antidyslipidemic drug. Pre clinic trial results showed that Gambir’s leaves containing ethyl acetate fraction decreased total cholesterol, triglyceride and LDL level and also improve HDL level. The mechanism of catechin as antidyslipidemic drug can be traced using a molecular docking study which is one of the studies of the in silico study model used to filter compounds based on their mechanism of action against targeted proteins. In this study, the molecular docking of catechin was done using Molecular on Environment Software (MOE) to identify the affinity and interaction with HMG-CoA reductase and LDL enzymes that contribute to fat/cholesterol metabolism. The results of molecular docking showed that catechin interaction against HMG-CoA reductase and LDL receptor enzymes had Gibbs value of -6,5758 kcal/mol and -16,1709 kcal/mol, respectively. Potential catechin action mechanisms as antidyslipidemic used two pathways, inhibition of the HMG-CoA reductase enzyme and increase the LDL receptor.*

Keywords : Catechin, MOE, HMG-CoA, LDL receptor

Abstrak

Indonesia kaya akan tanaman obat, salah satunya *Uncaria gambir* Linn yang dapat digunakan sebagai sumber bahan baku obat. Kandungan senyawa katekin yang tinggi dalam gambir berpotensi sebagai antidislipidemia. Hasil uji pre-klinik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun gambir dapat mengurangi kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan HDL. Mekanisme katekin sebagai antidislipidemia dapat ditelusuri menggunakan studi docking molekuler yang merupakan salah satu studi model studi in silico yang digunakan untuk menapis senyawa berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap protein target. Pada penelitian ini senyawa katekin dilakukan docking secara molekuler dengan menggunakan Software Molecular on Environment (MOE) dengan tujuan untuk mengetahui daya afinitas dan interaksinya terhadap enzim HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL yang berperan terhadap metabolisme kolesterol. Hasil docking molekuler menunjukkan bahwa interaksi katekin terhadap enzim HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL memiliki nilai Gibbs masing-masing sebesar -6,5758 kcal/mol dan -16,1709 kcal/mol. Potensi mekanisme aksi katekin sebagai antidislipidemia menggunakan dua jalur yaitu penghambatan enzim HMG-KoA reduktase dan peningkatan reseptor LDL.

Kata kunci: Katekin, MOE, HMG-KoA, reseptor LDL

PENDAHULUAN

Dislipidemia adalah suatu kondisi dimana tubuh memiliki kadar lipoprotein lemak yang abnormal di dalam plasma darah. Secara umum kadar kolesterol total, LDL, trigliserida, Apo B lebih dari 90 persentil atau konsentrasi HDL atau Apo A kurang dari 10 persentil dari populasi pada umumnya. Berdasarkan klasifikasinya, tipe lipoprotein yaitu kilomikron, Intermediate Density Lipoprotein (IDL), Very Low Density Lipoprotein (VLDL), Low Density Lipoprotein (LDL), High Density Lipoprotein (HDL), dan Apolipoprotein (Apo) telah dikenal.¹ Dislipidemia menyebabkan penumpukan kolesterol di saluran arteri dan menjadi faktor risiko utama terjadinya aterosklerosis.²

Aterosklerosis akan dapat menyempitkan ukuran saluran darah arteri dan dalam jangka panjang juga dapat memblok aliran darah ke jantung sehingga menimbulkan penyakit jantung koroner.³ Di antara semua faktor risiko utama, peningkatan konsentrasi LDL dan penurunan konsentrasi HDL disadari sebagai dua faktor risiko dominan yang penting. Pada tahap pertama, LDL akan membentuk lesi di dinding arteri dan akan teroksidasi ketika tidak ada pelindung seperti antioksidan. LDL yang teroksidasi menginduksi terjadinya modifikasi dalam lipoprotein, menstimulasi reaksi inflamasi, menyebabkan monocytes and monocyte-derived macrophages mengambil LDL yang teroksidasi, dan memicu terbentuknya *lipid-loaden foam cells* dan plak aterosklerosis. Plak ini menonjol dari permukaan dalam arteri, menyempitkan lumen, dan mengurangi aliran darah yang memicu terjadinya CVD (cardiovascular disease).⁴

Pengobatan utama untuk dislipidemia adalah dengan pemberian obat golongan statin yang masih menjadi pedoman tatalaksana terapi untuk dislipidemia lini pertama dan kedua. Obat golongan statin bertujuan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL. Statin setelah dikonsumsi diarahkan terutama ke hati dimana ia mengikat dan menghambat HMG-KoA reduktase, menurunkan produksi kolesterol. Penurunan kolesterol hati ini mengaktifkan pengolahan SREBPs (sepasang faktor transkripsi yang

terikat regulasi sterol) sehingga meningkatkan jumlah reseptor LDL yang ditampilkan pada membran sel hati. SREBPs juga meningkatkan jumlah HMG-KoA reduktase, namun ini tidak meningkatkan sintesis kolesterol karena enzim tersebut dihambat oleh statin. Reseptor LDL yang baru diproduksi mengeluarkan LDL dari darah, dan mengirimkannya ke bagian dalam sel tempat LDL dicerna dan kolesterol yang dilepaskan menjadi tersedia untuk keperluan metabolik. Efeknya adalah bahwa jumlah kolesterol di hati dipertahankan pada tingkat normal sementara pada saat bersamaan kadar kolesterol LDL dalam darah tetap rendah. Untungnya, reseptor LDL tidak mengikat HDL sehingga kadar lipoprotein yang bermanfaat ini tidak turun. Efisiensi dan keamanan statin yang luar biasa berasal dari efek spesifiknya terhadap penurunan LDL plasma secara selektif. Selain menggunakan obat-obat konvensional, saat ini penggunaan senyawa alam juga mulai dilirik kembali. Hal ini dikarenakan keanekaragaman hayati di Indonesia merupakan keempat terbesar di dunia. Potensi besar ini jika dapat dikembangkan dengan baik maka dapat dimanfaatkan menjadi bahan baku obat.

Indonesia masih sangat bergantung pada bahan baku impor. Lebih dari 90% bahan baku obat di Indonesia impor dari berbagai negara. Pada tahun 2014 nilai impor bahan baku obat mencapai 8 triliun untuk bahan natural dan 6,8 triliun untuk zat aktif kimia.⁶ Tingginya nilai impor bahan baku obat diprediksi akan meningkat dari tahun ke tahun. Hal ini sangat mengkhawatirkan karena dapat mempengaruhi tingkat keberhasilan Program Kesehatan Nasional dalam meningkatkan derajat kesehatan manusia di Indonesia.⁷ Kementerian Kesehatan mendorong upaya kemandirian bahan baku obat salah satunya dengan pengembangan bahan baku obat dari tanaman obat yang ada di Indonesia. Salah satu tanaman obat yang sedang dikembangkan yaitu gambir dengan senyawa katekin sebagai kandungan utamanya.

Penelitian secara preklinis menunjukkan adanya korelasi positif antara konsumsi katekin dalam teh hijau dengan kesehatan jantung melalui banyak mekanisme yaitu antioksidasi, antihipertensi, antiinflamasi, antiproliferasi, antitrombogenik dan menurunkan kadar lemak.⁸

Di dalam gambir, senyawa katekin dapat mencapai kadar >60% sehingga potensial untuk digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Penelitian Yunarto et al menyebutkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun gambir dapat mengurangi kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan HDL dalam plasma darah tikus pada dosis 20mg/200g BB.⁹ Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui mekanisme kerja katekin dalam mengatasi dislipidemia dengan menggunakan metode komputasi.

Metode kimia komputasi adalah salah satu bagian penting yang masuk ke dalam interdisiplin ilmu penelitian untuk penemuan obat. Metode ini berkembang dengan menggunakan komputer dan mengkombinasikan kimia dan biologi untuk mempersingkat penemuan, desain, pengembangan dan optimasi obat.¹⁰ Dalam penelitian ini digunakan untuk menapis senyawa potensial sebagai obat yang digunakan dalam terapi farmakologi ke depannya. Metode penelitian yang digunakan adalah studi docking (penambatan) molekuler yaitu salah satu studi in silico yang melakukan pemodelan mekanisme kerja senyawa kimia aktif dengan suatu enzim/protein target dengan pendekatan komputasi dengan menilai kekuatan afinitas ikatan antara keduanya yang ditunjukkan dengan nilai energi bebas Gibbs (G).¹¹

Energi bebas Gibbs merupakan potensial termodinamika yang diminimalkan saat sistem mencapai kesetimbangan pada tekanan dan suhu konstan. Nilai energi Gibbs menunjukkan spontanitas molekul atau senyawa untuk berikatan dengan reseptor atau protein target. Energi bebas Gibbs yang bernilai kurang dari nol (0) menunjukkan ikatan senyawa dan protein target terjadi secara spontan.¹² Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan katekin dalam berikatan dengan HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL sebagai protein target untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

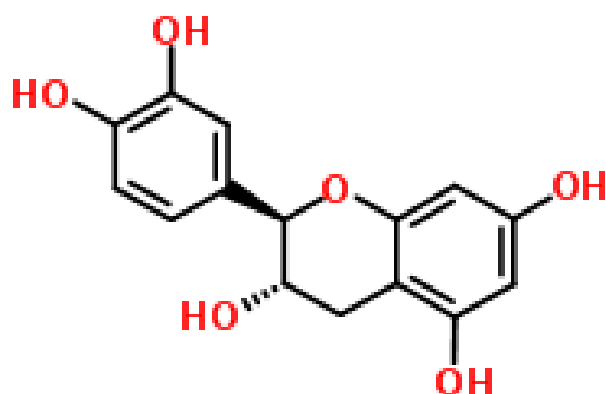
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah molekul senyawa katekin, reseptor LDL,

dan enzim HMG-KoA reduktase. Molekul katekin diperoleh dalam bentuk 2D dengan format (.mol) yang diunduh dari situs www.chemspider.com. Molekul reseptor LDL dan HMG-KoA reduktase diperoleh dalam bentuk 3D dengan format (.pdb) yang didapatkan dari situs www.rcsb.org yang merupakan situs protein data bank yaitu dengan kode 3M0J dan 1AJJ. Format 3D didapatkan dari pemodelan setelah kristalisasi protein dari penelitian sebelumnya. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat komputer yang telah dipasang (install) software *Molecular Operating Environment* (MOE) 2015.08 (Ryoka System Inc, Japan).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian in silico atau komputasi dengan menggunakan metode docking molekuler. Penelitian dilakukan di laboratorium Farmasi, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

Uji in silico dilakukan melalui tiga tahapan. Tahap pertama adalah optimasi enzim HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL. Optimasi protein dilakukan dengan cara mengunduh file protein di software MOE yang telah terhubung ke situs protein data bank. Molekul protein yang telah diunduh kemudian dilakukan skrining untuk melihat kesiapan protein sebelum proses docking. Pada tahap ini molekul air dihilangkan, dilakukan penambahan atom H, verifikasi asam amino, minimalisasi energi, dan charge molekul protein menjadi bermuatan. Pada tahap kedua dilakukan optimasi senyawa uji katekin. Katekin yang telah diunduh dari situs www.chemspider.com ditambahkan atom hidrogen, diberikan muatan potensial dan diminimalisasi energinya sehingga membentuk konformasi dengan bentuk 3D paling stabil. Tahap ketiga dilakukan docking antara katekin dengan enzim HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL. Docking dilakukan dengan memilih sisi aktif protein lalu dilakukan proses docking. Tahap keempat dilakukan untuk interpretasi hasil dengan melihat jenis interaksi ikatan yang terjadi antara senyawa uji dan protein. Struktur molekul dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Molekul Katekin

HASIL

Energi bebas Gibbs yang dibutuhkan untuk pembentukan ikatan katekin dengan enzim HMG-KoA reduktase sebesar -6,5758 kcal/mol dan untuk pembentukan ikatan katekin dengan reseptor LDL sebesar -16,1709 kcal/mol. Berdasarkan kedua data ini dapat disimpulkan katekin lebih mudah berikatan dengan reseptor LDL. Semakin rendah energi ikatan maka semakin besar efek farmakologis yang ditimbulkan.¹³

Energi bebas Gibbs pada ikatan katekin dan HMG-KoA reduktase lebih rendah dibandingkan Simvastatin (-6,4974 kcal/mol) pada penelitian Isnawati dan Adelina, 2016¹⁴ sehingga dapat dianggap bahwa kemampuan katekin dalam menghambat enzim HMG-KoA reduktase similar dengan Simvastatin. Interaksi yang terjadi pada ikatan katekin dengan HMG-KoA reduktase dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2 sedangkan interaksi yang terjadi pada ikatan katekin dengan reseptor LDL dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

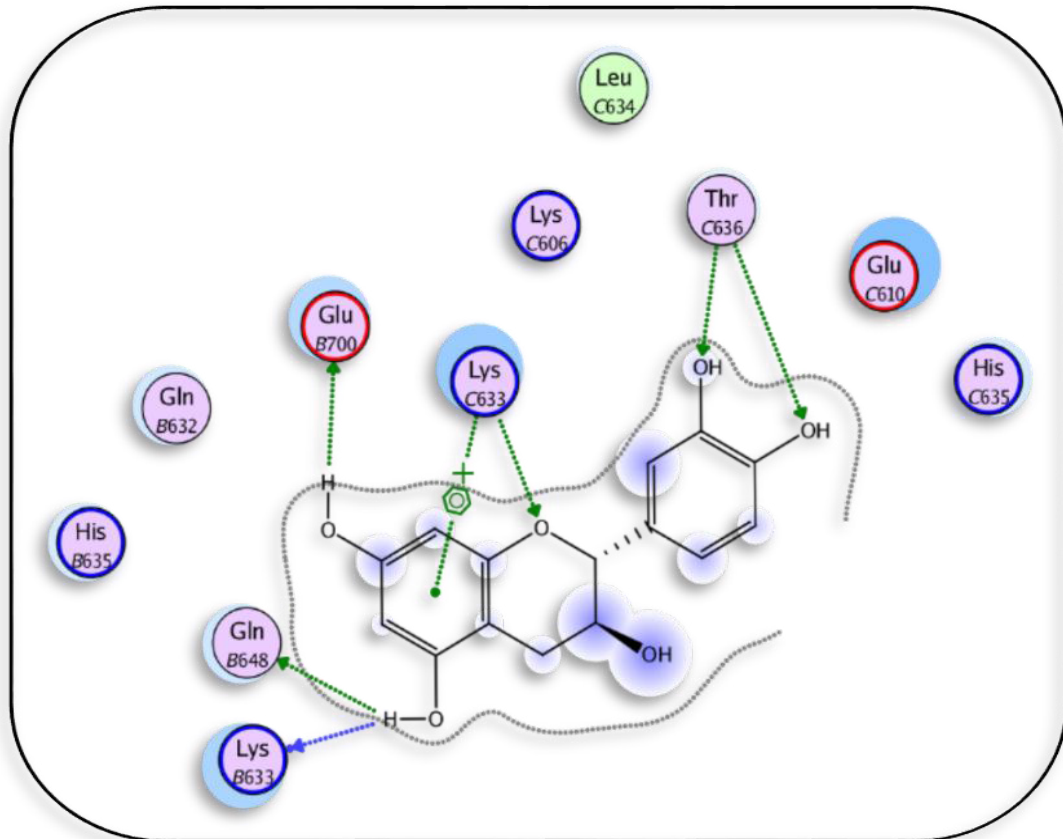
Pada Gambar 2 terlihat bahwa interaksi ikatan yang terjadi pada ikatan katekin dan HMG-KoA reduktase lebih dari 1 jenis ikatan, yaitu 1 ikatan hidrofobik dan 6 ikatan hidrogen. Banyaknya jumlah ikatan ini menentukan kemampuan katekin dalam menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase. Bahkan terdapat 2 ikatan pada satu gugus menandakan ikatan yang terjadi cenderung stabil. Penghambatan kerja enzim HMG-KoA reduktase akan berpengaruh pada sintesis kolesterol secara keseluruhan sehingga kadar kolesterol total dalam darah akan menurun.¹⁵

Tabel 1. Interaksi Ikatan Katekin-HMGKoA Reduktase

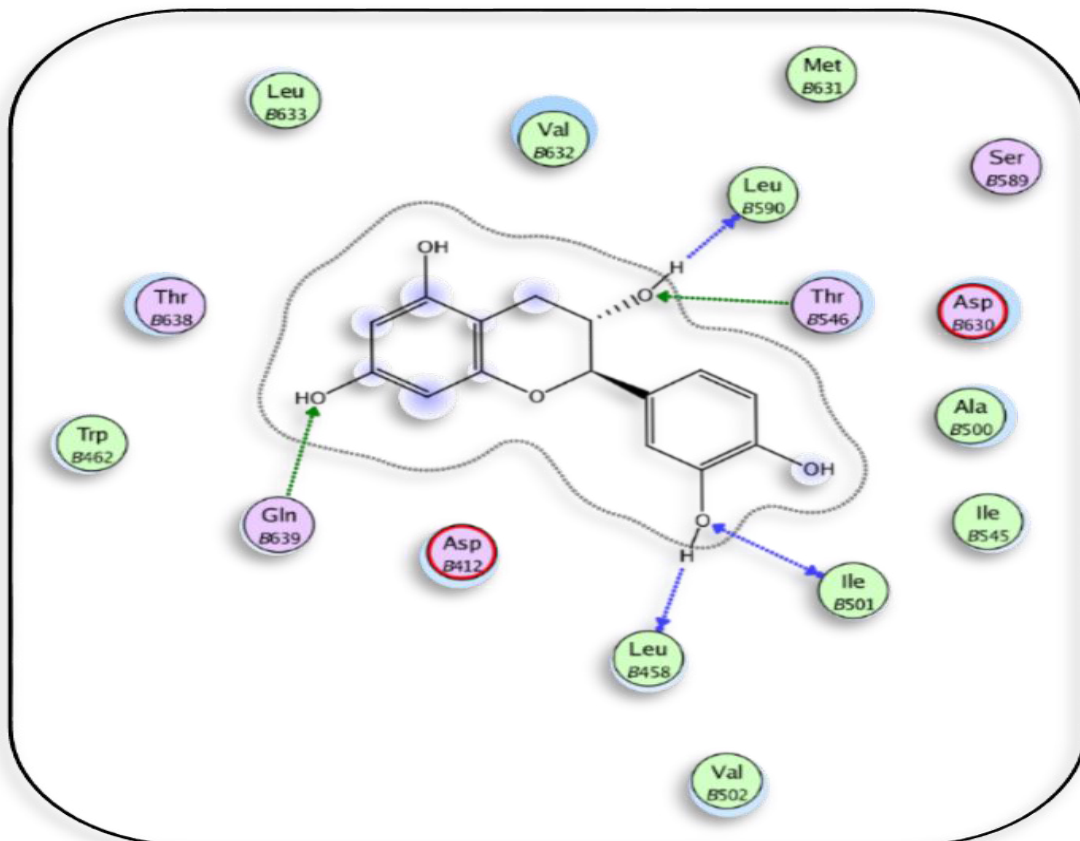
| Ikatan Hidrogen | | | Ikatan Hidrofobik | |
|-----------------|--------------------------|------------------------------------|-------------------|--------------------------|
| No | Donor Hidrogen | Akseptor Hidrogen | Jarak Ikatan | Gugus Asam Amino |
| 1 | Lisin C633 | Cincin C | 2,18 | Lisin C633 pada cincin A |
| 2 | Treonin C636 | Atom OH pada gugus benzil cincin B | 1,97 | - |
| 3 | Gugus hidroksil cincin A | Asam Glutamat B700 | 1,82 | - |
| 4 | Gugus hidroksil cincin A | Glutamin B648 | 1,81 | - |
| 5 | Gugus hidroksil cincin C | Lisin B633 | 2,14 | - |

Tabel 2. Interaksi Ikatan Katekin-Reseptor LDL

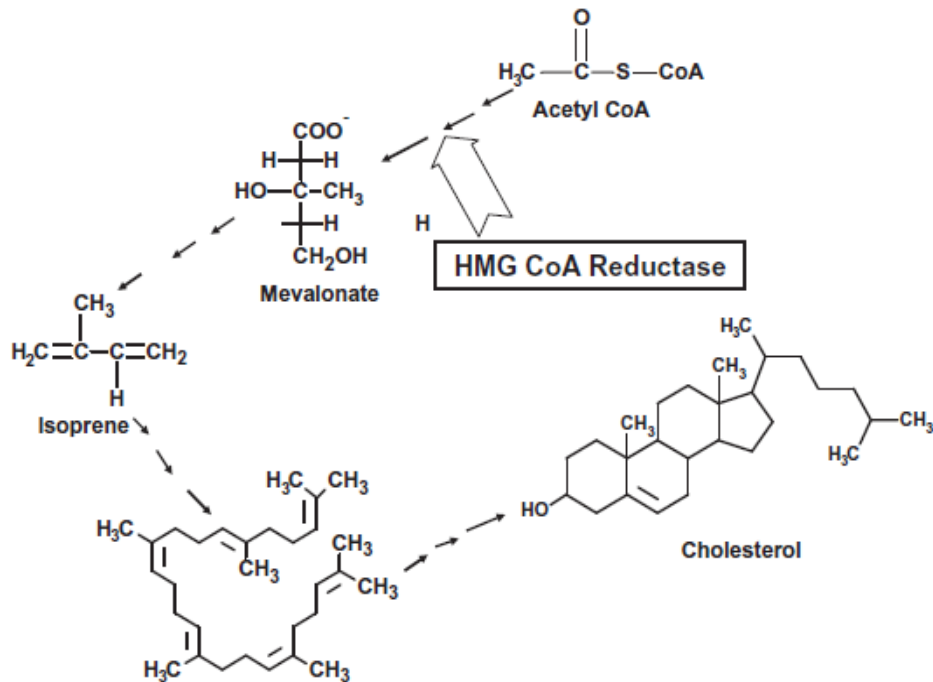
| Ikatan Hidrogen | | | Ikatan Hidrofobik | |
|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|------------------|
| No | Donor Hidrogen | Akseptor Hidrogen | Jarak Ikatan | Gugus Asam Amino |
| 1 | Gugus Hidroksil | Leusin B590 | 2,20 | - |
| 2 | Treonin B546 | Gugus Hidroksil | 2,05 | - |
| 3 | Isoleusin B501 | Gugus Hidroksil | 1,72 | - |
| 4 | Gugus Hidroksil | Isoleusin B501 | 2,37 | - |
| 5 | Glutamin B639 | Gugus Hidroksil | 1,84 | - |
| 6 | Gugus Hidroksil | Leusin B458 | 1,68 | - |



Gambar 2. Interaksi Ikatan Katekin dengan HMG-KoA Reduktase



Gambar 3. Interaksi Ikatan Katekin dengan Reseptor LDL

Gambar 4. Sintesis Kolesterol¹⁶

Pada ikatan katekin-reseptor LDL tidak ditemukan adanya ikatan hidrofobik namun terdapat 2 ikatan hidrogen pada dua gugus di katekin (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan simulasi komputasi menggunakan dua protein target dengan maksud membandingkan kemampuan katekin dalam menurunkan kadar kolesterol total di dalam plasma darah melalui dua kemungkinan jalur yaitu menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase dan meningkatkan kerja reseptor LDL. Nilai energi Gibbs di bawah nol (0) menunjukkan reaksi spontanitas terbentuknya ikatan antara senyawa dengan protein target. Nilai energi bebas Gibbs yang semakin rendah mencerminkan bahwa reaksi ikatan yang terjadi lebih spontan dan mudah sehingga ikatan lebih stabil. Dengan demikian, katekin lebih mudah berikatan dengan reseptor LDL dibandingkan dengan enzim HMG-KoA reduktase.

Pada penelitian secara preklinis menggunakan tikus, katekin terbukti mampu mengurangi kadar kolesterol total dan LDL dalam plasma darah tikus.⁶ Maka dalam penelitian ini dilakukan studi untuk melihat potensi

mekanisme kerja yang terjadi dalam penurunan kadar kolesterol plasma tikus. Simvastatin merupakan senyawa inhibitor kompetitif HMG-KoA reduktase dan merupakan analog struktural dari HMG-KoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A). Secara umum statin bekerja dengan memperlambat produksi kolesterol dan meningkatkan kemampuan hati untuk mengeluarkan kolesterol dari dalam darah.

Sintesis kolesterol dilalui dalam empat tahap dan dimulai dengan asetil-KoA. Tahap pertama adalah sintesis mevalonat dari asetil-KoA; tahap kedua mengubah mevalonat menjadi activated isoprenes; tahap ketiga sintesis squalene; tahap keempat sintesis kolesterol. HMG-KoA sebagai pengendali laju sintesis kolesterol. Dengan dihambatnya HMG-KoA akan mengurangi sintesis mevalonat sehingga kolesterol pun akan berkurang.¹⁶

Terlihat juga bahwa gugus yang berperan dalam ikatan adalah gugus hidroksil pada katekin namun asam amino yang berperan dalam kedua ikatan berbeda. Mekanisme kerja senyawa bahan alam dalam meningkatkan kerja reseptor LDL yaitu dengan berikatan dengan ERE, Sp-1 atau Ap-1 di reseptor LDL yang bekerja sebagai promotor pada reseptor LDL. Peningkatan ekspresi reseptor LDL akan memicu peningkatan

metabolisme LDL sehingga kadar LDL dalam plasma menurun. Semakin banyak ikatan yang terbentuk maka semakin stabil katekin dalam berikatan dengan enzim HMG-KoA reduktase dan memberikan efek farmakologis yang lebih kuat.

Adanya ikatan hidrofobik pada interaksi katekin dengan enzim HMG-KoA reduktase membuat ikatan hydrogen di sekitarnya mengendur sehingga energi ikatan yang diperlukan menjadi meningkat. Hal ini terlihat dari nilai energi bebas Gibbs dari kedua ikatan yang menyimpulkan katekin lebih mudah berikatan dengan reseptor LDL.

KESIMPULAN

Katekin mampu berikatan dengan HMG-KoA reduktase dan reseptor LDL. Fungsi katekin sebagai antidislipidemia lebih potensial pada penghambatan pembentukan LDL dengan berikatan dengan reseptor LDL.

SARAN

Aktivitas gambir sebagai antidislipidemia sangat potensial. Oleh karena itu, ketersediaan bahan baku ekstrak gambir perlu diupayakan dan dipertimbangkan lebih serius untuk menopang ketersediaan gambir sebagai antidislipidemia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kepala Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dan Kepala Laboratorium Farmasi Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan atas komputer dengan software berlisensi yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Fakhrzadeh H, Tabatabaei-Malazy O. Dyslipidemia and cardiovascular disease. In *Dyslipidemia From Prevention to Treatment* 2012. InTech.
2. Barseghian A, Gawande D, Bajaj M. Adiponectin and vulnerable atherosclerotic plaques. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Feb 15;57(7):761-70.
3. Amarenco P, Labreuche J, Touboul PJ. High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review. *Atherosclerosis*. 2008 Feb 1;196(2):489-96.
4. Babu A, Pon V, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Current medicinal chemistry*. 2008 Aug 1;15(18):1840-50.
5. Goldstein JL, Brown MS. History of Discovery: The LDL receptor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2009 Apr 1;29(4):431-8.
6. Kementerian kesehatan RI, Permenkes RI, No. 17/Menkes/Per/II/2017, Tentang Rencana Aksi Pengembangan Industri Farmasi dan Alat Kesehatan. Jakarta : Kemenkes RI; 2017.
7. Kementerian kesehatan RI, Permenkes RI, No. 87/Menkes/Per/II/2013, Tentang Peta Jalan Pengembangan Bahan Baku Obat. Jakarta : Kemenkes RI; 2013.
8. Babu A, Pon V, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Current medicinal chemistry*. 2008 Aug 1;15(18):1840-50.
9. Yunarto N, Elya B, Konadi L. Potensi fraksi etil asetat ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai antihiperlipidemia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015 Feb 28;5(1):1-0
10. Kapetanovic IM. Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. *Chemico-biological interactions*. 2008 Jan 30;171(2):165-76
11. Bajorath J. Computer-aided drug discovery. *F1000Research*. 2015;4.
12. Hill AD, Reilly PJ. A Gibbs free energy correlation for automated docking of carbohydrates. *Journal of computational chemistry*. 2008 May;29(7):1131-41.
13. Thomsen R, Christensen MH. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of medicinal chemistry*. 2006 Jun 1;49(11):3315-21.
14. Isnawati A, Adelina R. Studi Docking Molekuler Catechin Gallate, Epicatechin Gallate, Gallocatechin Gallate, dan Epigallocatechin Gallate sebagai Obat Dislipidemia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015 Feb 28;5(1):25-32.

15. Cho IJ, Ahn JY, Kim S, Choi MS, Ha TY. Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008 Feb 29;367(1):190-4.
16. Chen ZY, Ma KY, Liang Y, Peng C, Zuo Y. Role and classification of cholesterol-lowering functional foods. *Journal of Functional Foods*. 2011 Apr 1;3(2):61-9.
17. Adelina R, Supriyati MD, Nawangsari DA, Jenie RI, Meiyanto E. Citrus reticulata's Peels Modulate Blood Cholesterol Profile and Increase Bone Density of Ovariectomized Rats. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 2008;13(2).